

# Наставна јединица 14

## Имуноterapiја малигних тумора

# Терапија тумора

- Хемотерапија
- Хипотеза фракционе цитотоксичности предпоставља да одређена концентрација цитостатика, примењена у одређеном временском периоду убија константну фракцију популације туморских ћелија. На тај начин сваки следећи терапијски циклус убија исту фракцију преосталих ћелија.
- На пример, ако је цитотоксичан ефекат 99% по једном циклусу, популација туморских ћелија од  $10^{11}$  ће се за шест циклуса смањити на мање од једне ћелије:  $[10^{11} \text{ ћелија}] \cdot [0.01]^6 < 1$ .

# Терапија тумора

- Резистенција
- Опште је познато да је настанак резистенције на лек (цитостатик) последица случајних мутација у популацији туморских ћелија.
- Могућност *de novo* настанка резистенције у било којој популацији туморских ћелија се повећава са бројем ћелија и бројем ћелијских деоба.
- Неселективност
- Токсичност

# Изазов

Како на основу биолошких карактеристика тумора направити тумор-специфичну терапију?

# Биотерапија

Биотерапија представља први покушај да се терапија карцинома учини специфичном у односу на малигне ћелије

# Биотерапија

- **Биотерапија** подразумева употребу агенаса биолошког порекла или агенаса који модификују биолошки одговор
- **Синоними:** биолошка терапија, имунотерапија, терапија модификаторима биолошког одговора
- **Имунотерапија** је облик биотерапије која користи и модификује имунски систем, ћелије и молекуле имунског система укључене у имунски одговор, у борби против болести.

# Имунотерапија- почеци

- **Вилијам Бредли Кол** (William Bradley Coley), 19. век, амерички хирург који је утврдио повезаност инфекције и спонтане регресије тумора.
- Сарком-постоперативни еризипел-регресија (Coley, 1893; Coley, 1911).
- Примењивао бактеријске токсине у терапији тумора.

# Имунотерапија- почеци

- Три кључне обсервације које су омогућиле настанак имунотерапије:
- спонтана ремисија неких тумора
- повећана инциденца тумора код имуносупресивних особа
- присуство лимфоцитних инфилтрата у туморима



# Имунотерапија- почеци

- Заједнички назив за агенсе који се користе у биотерапији је модификатори биолошког одговора.
- Данас се велике количине модификатора биолошког одговора могу направити у лабораторији и користити у терапији многих болести, као што су малигни тумори, хронична HCV инфекција, реуматоидни артритис...

# Имунотерапија малигних тумора

- неспецифична имунотерапија
- 1959, Biozzie: Bacille Calmette-Guérin (BCG), неспецифични активатор мононуклеарно-фагоцитног система, успорава раст тумора
- костимулатори

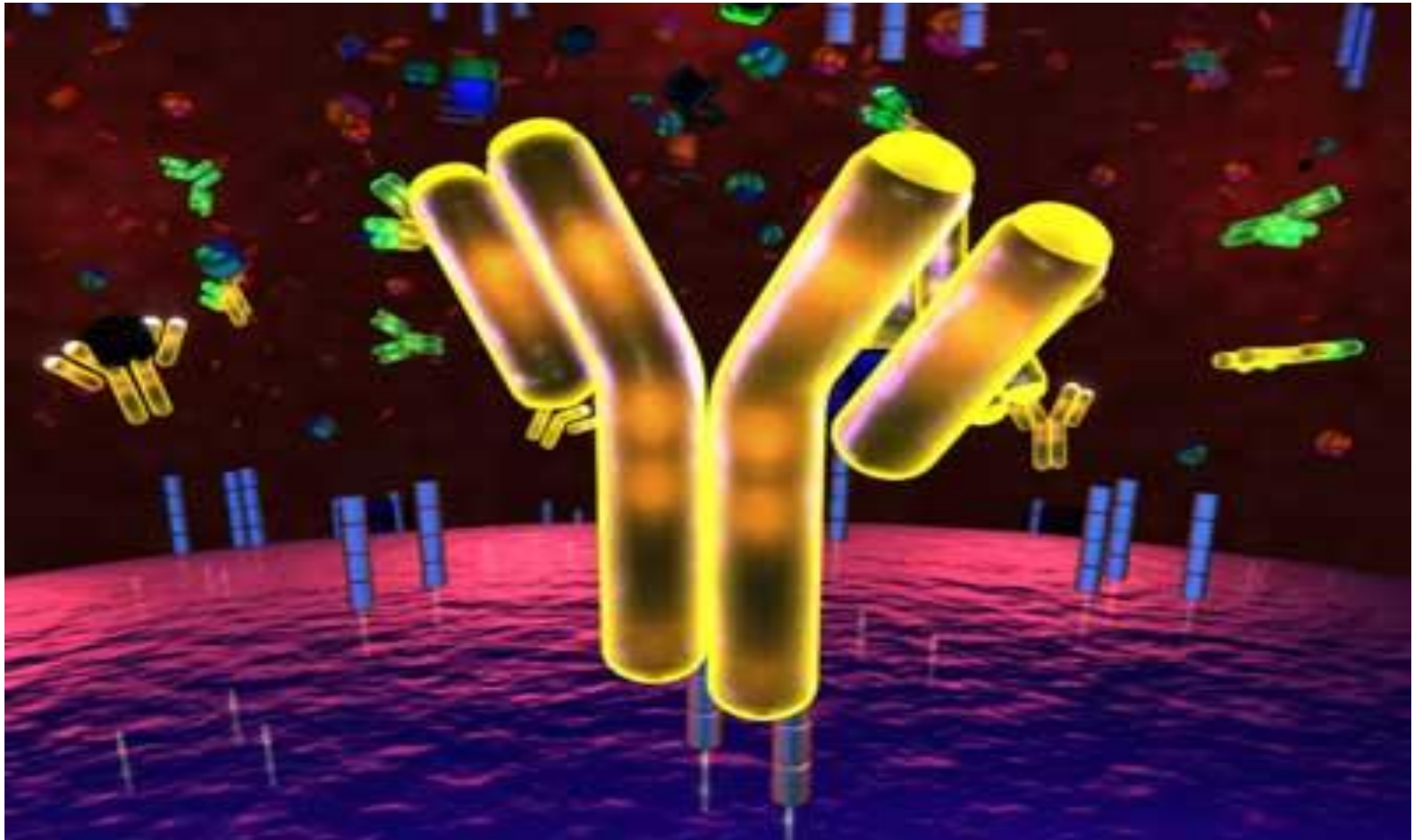
# Цитокини

- **IFN**- антипролиферативно и имуномодулаторно
- примењује се:
  - као монотерапија у ниским, средњим или високим дозама.
  - у комбинацији са другим цитокинима (најчешће IL-2) или у склопу хемиотерапије.

# Цитокини

- IL-2, одобрен је 1992. за терапију метсастатског карцинома бубрега, а 1998. и за терапију метастатског меланома
- користи се за продукцију LAK и TIL ћелија, али и самостално, најчешће у комбинацији са IFN, а у последње време у многобројним туморима у комбинацији са IL-12, пасивном имунотерапијом mAb и хемиотерапијом
- у високим дозама IL-2- изразита токсичност
- примена се своди на sc давање.

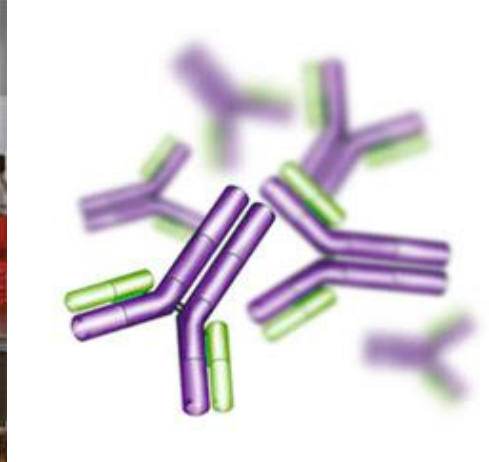
# Антитела



- ПОЛИКЛОНСКА АНТИТЕЛА
- МОНОКЛОНСКА АНТИТЕЛА



*Cesar Milstein*



*George Kohler*

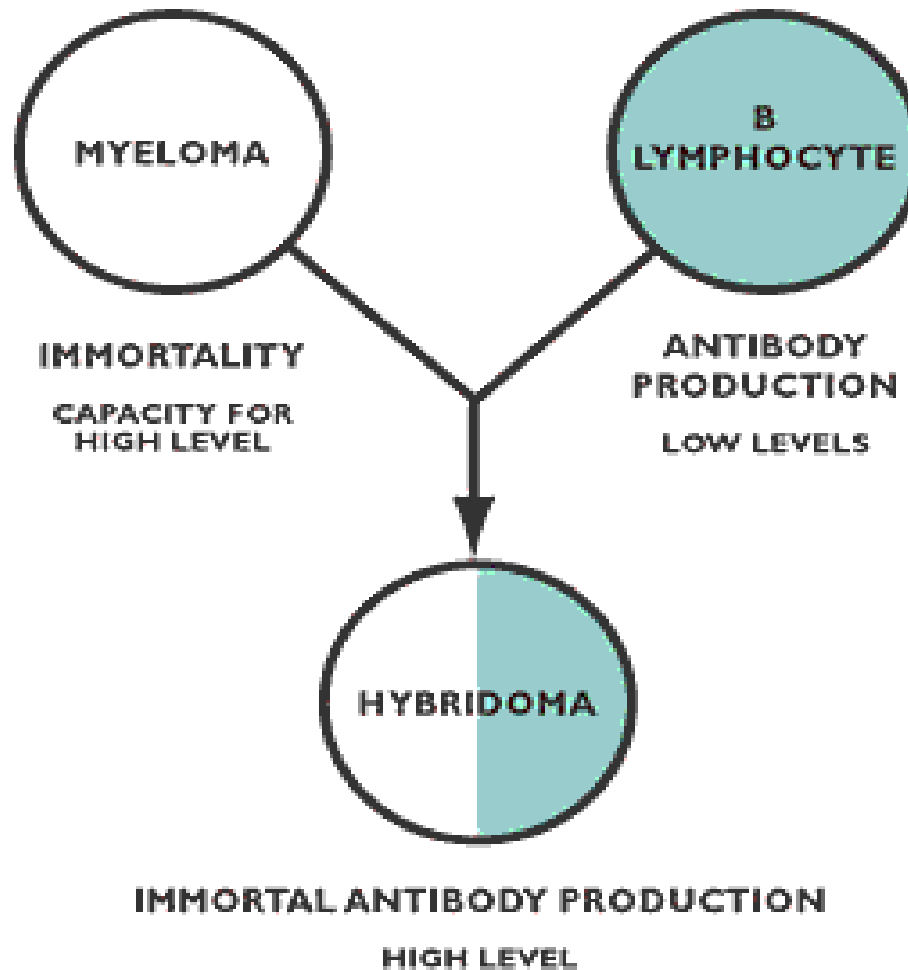
С. Milstein и G. Kohler су први, 1975. г., увели технику за производњу  
МОНОКЛОНСКИХ АНТИТЕЛА



1984. г. добили су Нобелову награду

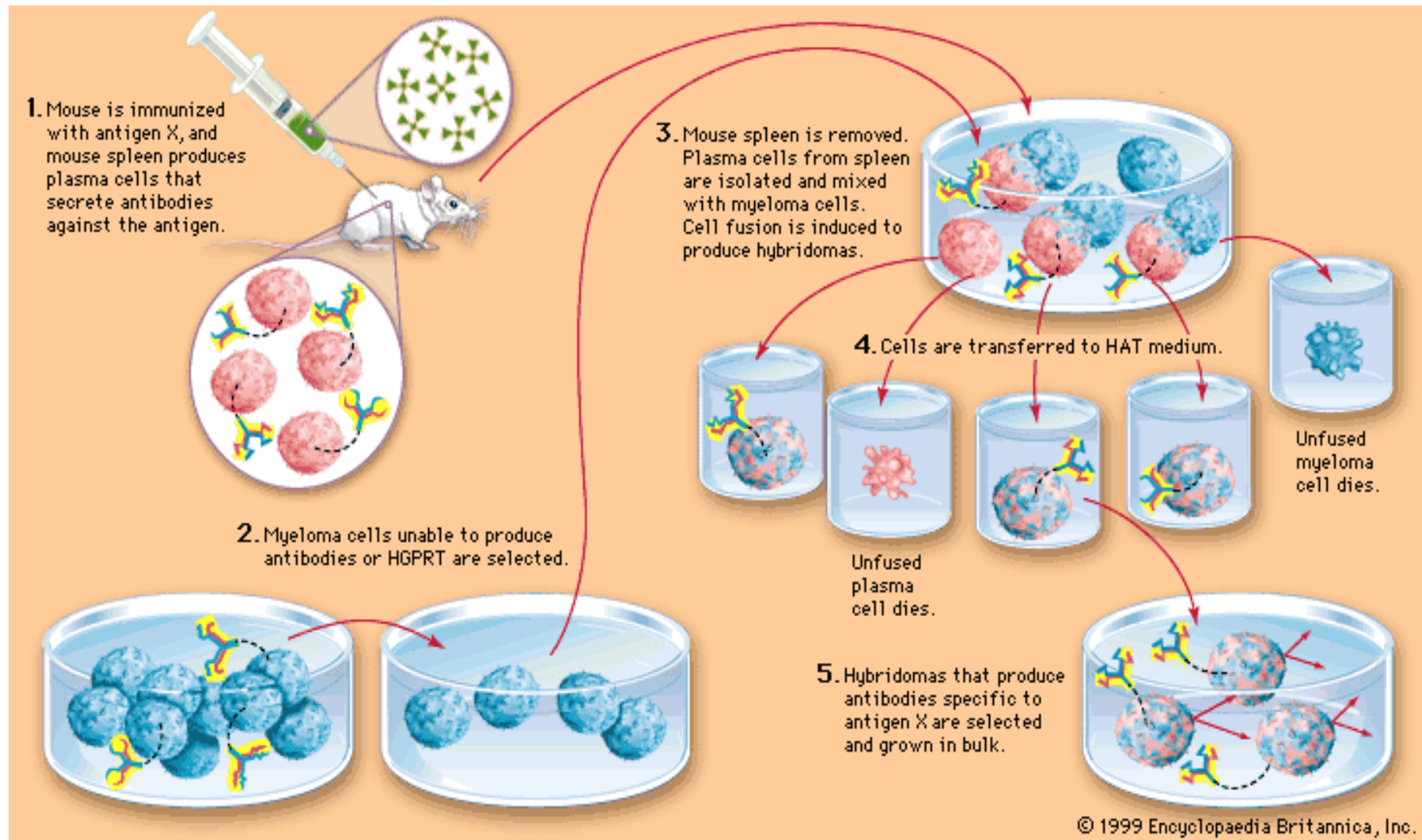
Georges Kohler & Cesar Milsterin 1975.

## Хибридизација





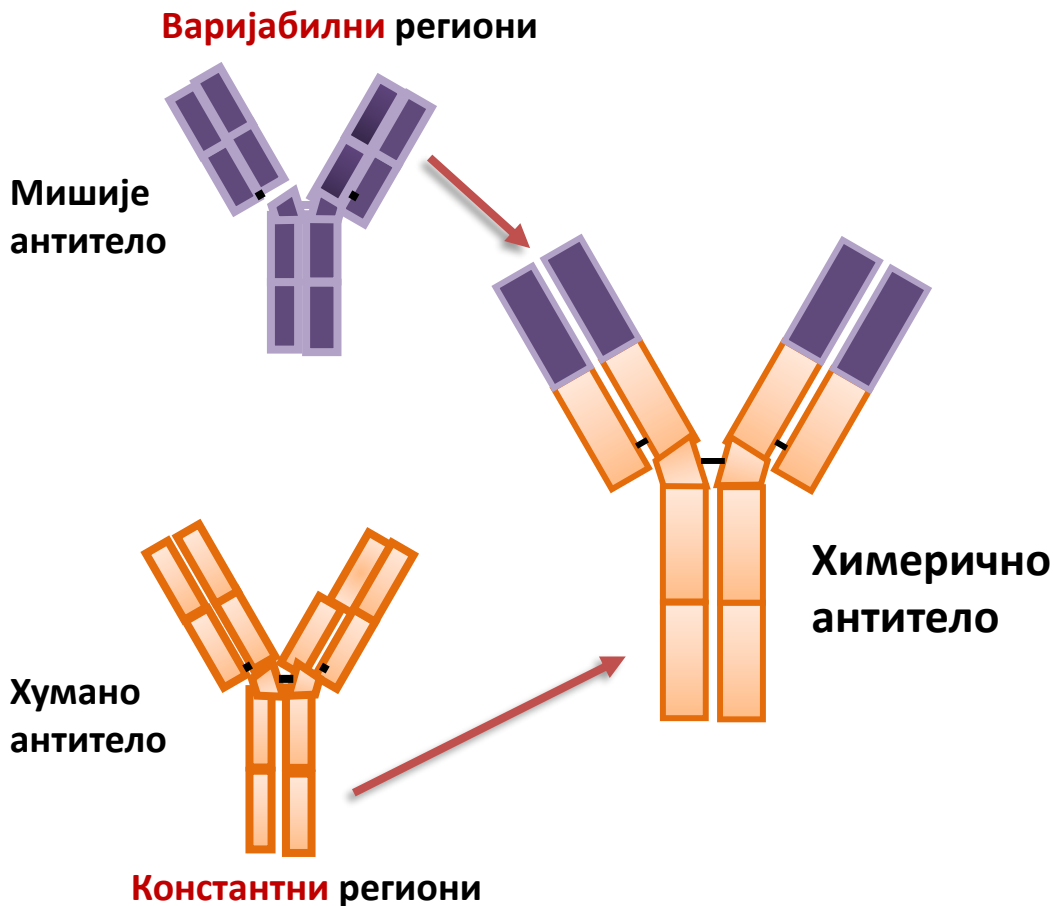
# Техника производње МАb





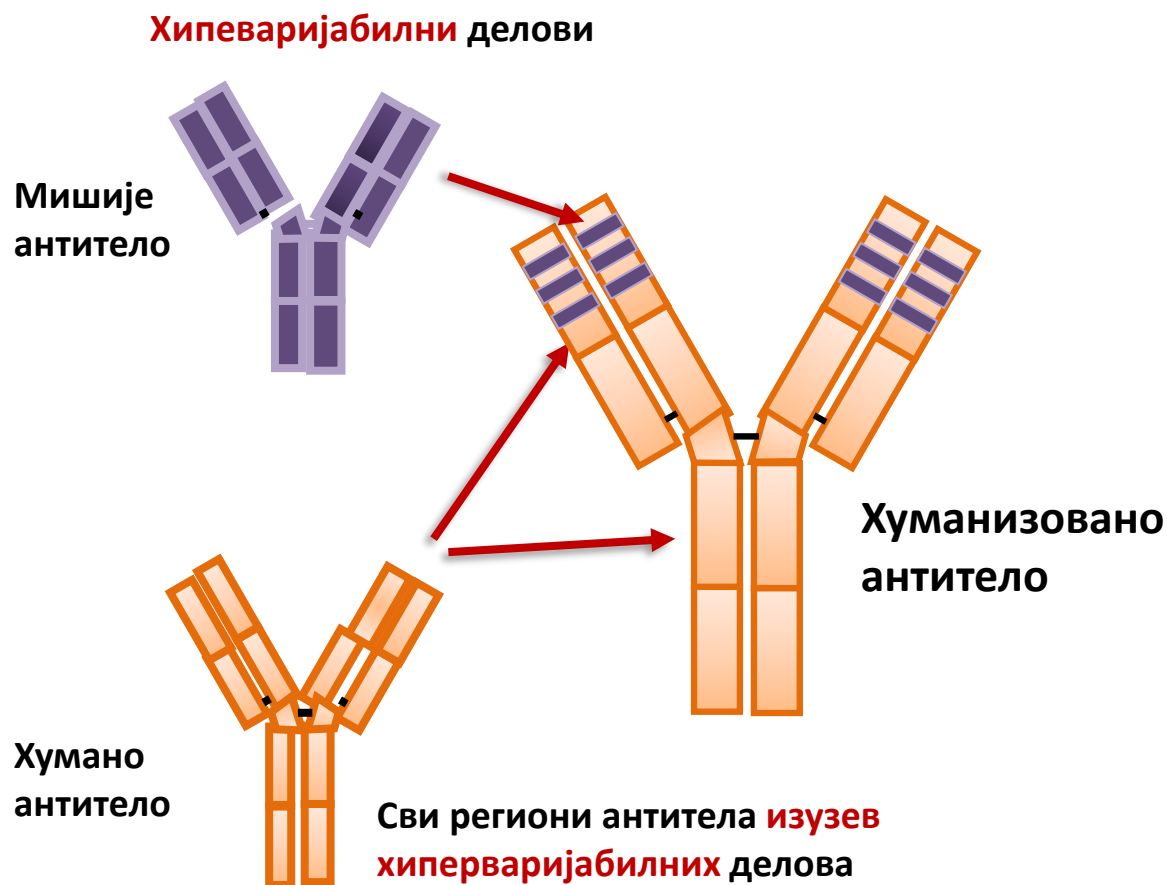
# Химерично антителио

Технике генетичког инжењеринга за добијање различитих облика хуманизованих антителиа су у многоне допринеле у решавању свих претходно наведених проблема.



Химерично антителио се добија генетском фузијом варијабилних региона мишијих антителиа са константним регионима хуманог антителиа

# Хуманизовано антитело



Хуманизовано антитело се добија спајањем хиперваријабилних делова мишијег антитела са осталим регионима хуманог антитела. Другим речима у варијабилне регионе хуманог антитела се инсертују мишији хиперваријабилни региони.

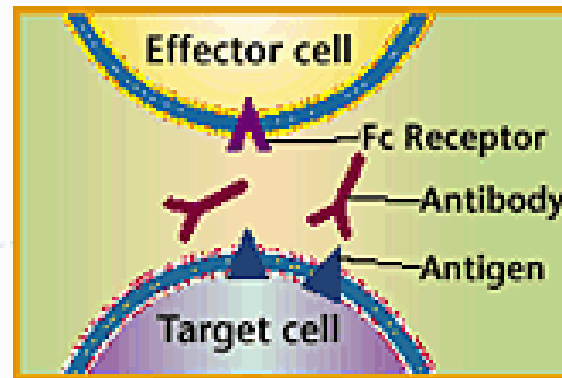
# Антитела

- Моноклонска антитела
- Специфична за онкогене производе који се експримирају у високим нивоима код неких тумора
- Повећање ефикасности МАb (мишја): хуманизирана антитела
  - Хибридна антитела задржавају антигену специфичност, а имају остале карактеристике хуманих антитела
- У циљу повећања цитотоксичности, за антитела се везују радиоактивни изотопи, цитотоксични лекови или токсини.

# Моноклонска антитела у лечењу малигнома

Моноклонска антитела могу да убију малигне ћелије на више начина.

Антитела могу да делују **директним** механизмом тако што се везују за **рецепторе важне за раст тумора** (рецептори за IL-2 у леукемијама, HER2/neu у карциномима...) и на тај начин блокирају сигнализацију са рецептора која се покреће везивањем њихових лиганата. Друга антитела се везују и **ометају функцију површинских молекула** (CD20, CD19 у лимфомима) или активирају сигналне **молекуле** који **узрокују апоптозу** ћелије (Fas на туморским ћелијама).



**Baseline state**

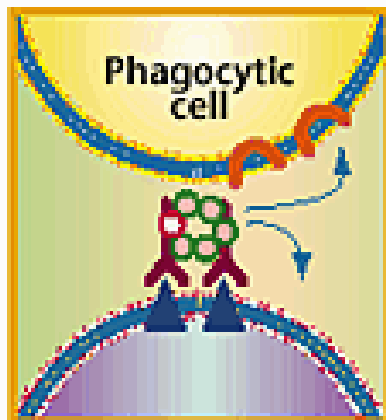
No effector cell engagement  
No complement activation  
No signalling

①

②

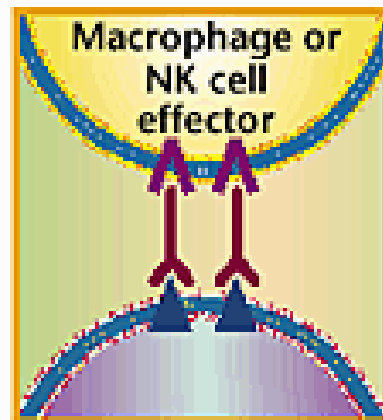
③

④



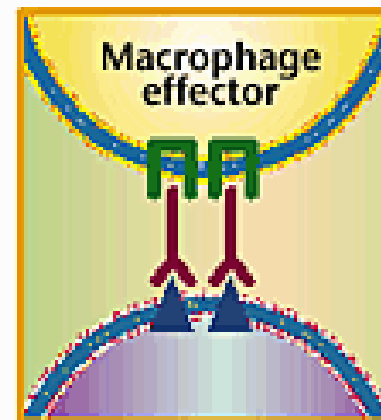
1. Fix complement: initiate opsonization, lysis, inflammation.

**Protection from tumor**



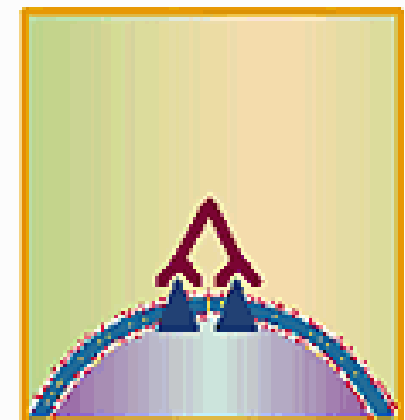
2. Crosslink FcγRIII. Initiate ADCC and cytokine release.

**Protection from tumor**



3. Crosslink FcγRII  
Inhibit effector cell.

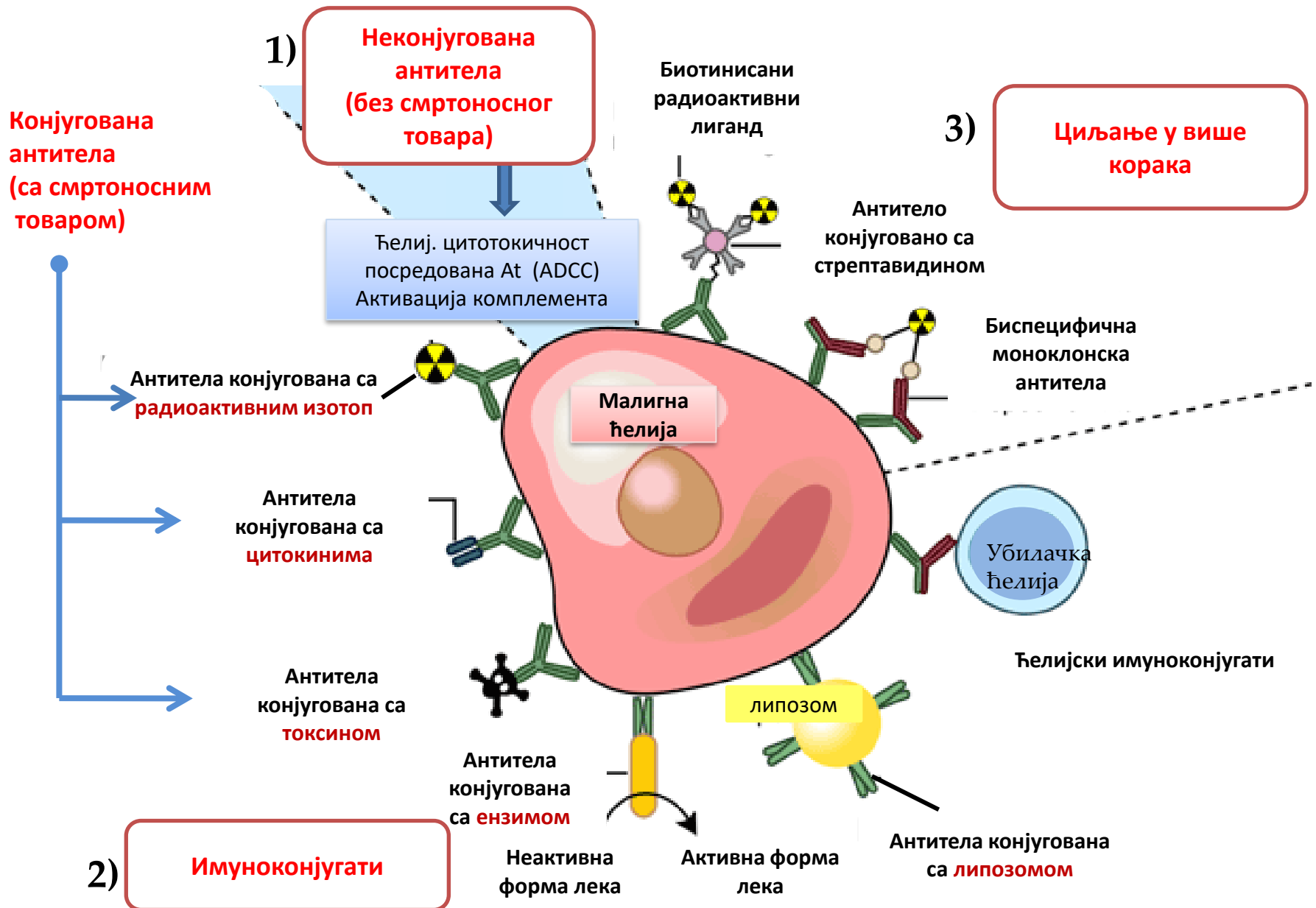
**No protection from tumor**



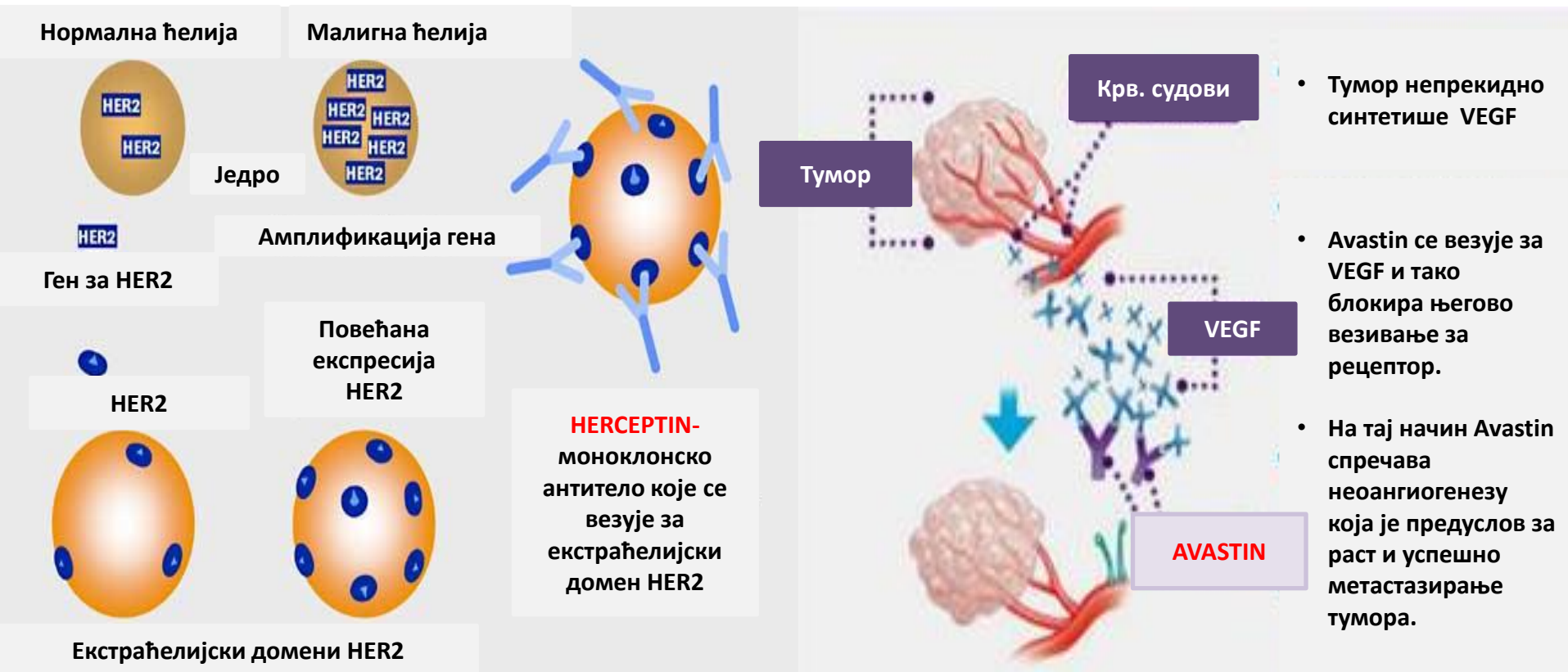
4. Crosslink antigens on cancer cell. Initiate signals, block growth or survival.

**Protection from tumor**

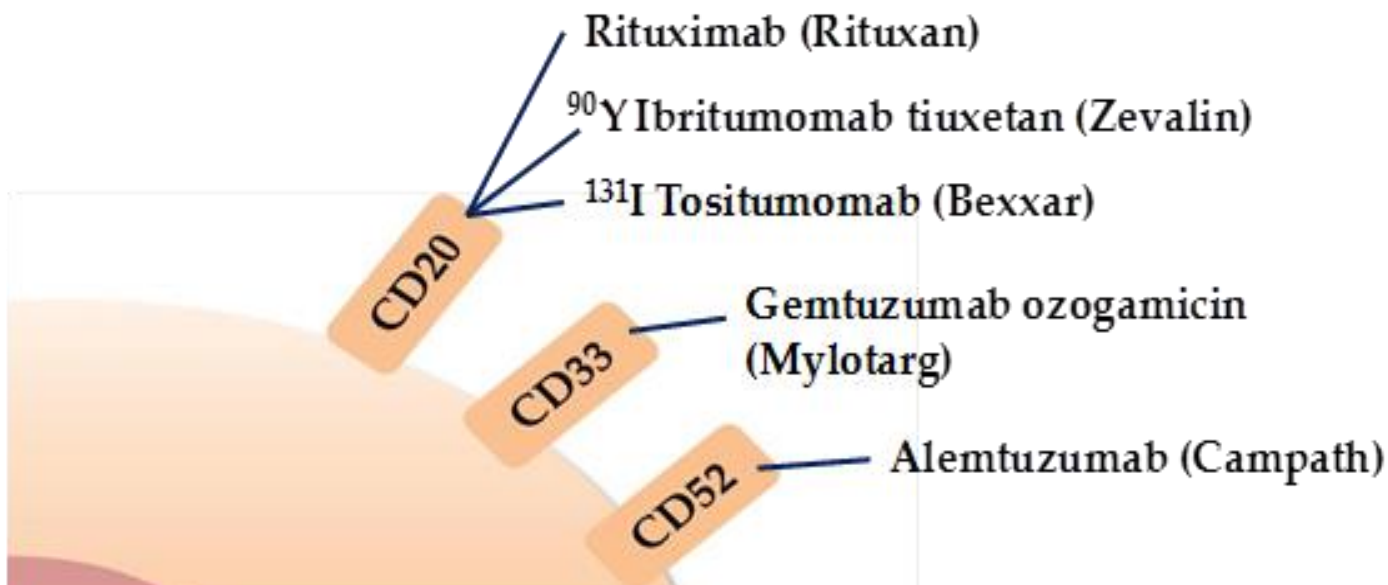
# Антитело као "магични метак" у терапији тумора



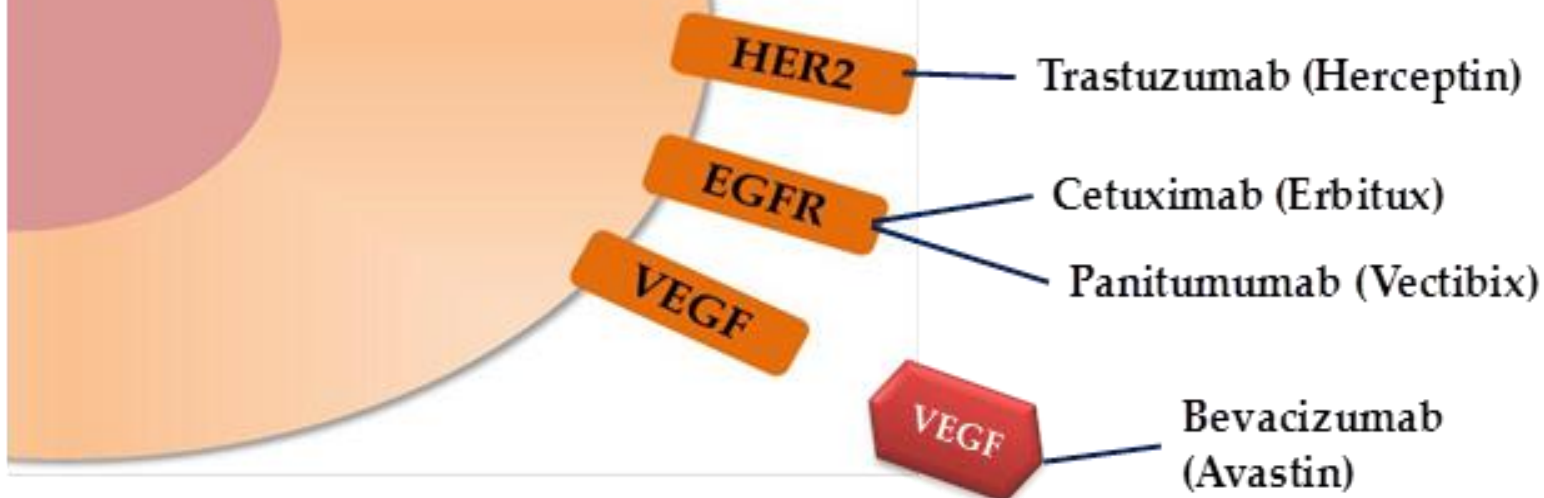
# ... Антитела која инактивирају рецепторе важне за раст тумора (HER2) или инхибирају факторе раста (VEGF) неопходне за неоангиогенезу



## ХЕМАТОЛОШКИ МАЛИГНОМИ

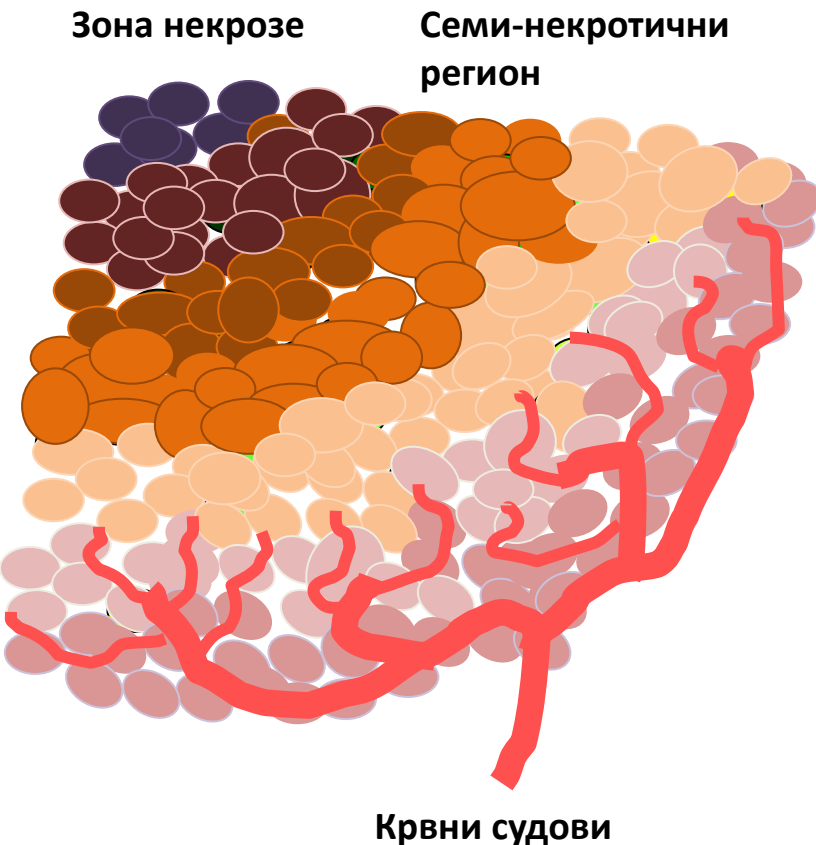


## СОЛИДНИ ТУМОРИ





# Проблеми који ограничавају успех у терапији тумора



Главни проблем који ограничава успех имунотерапије је то што многи тумори не исказују специфичне антигене па постоји могућност нежељене, унакрсне реактивности са нормалним ткивом.

На пенетрацију моноклонских антитела у туморско ткиво утичу величина туморске масе, пермеабилност васкуларне мреже и карактеристике туморске микросредине као што су  $pH$ ,  $pO_2$  и повећан притисак интерстицијалне течности.

# LAK ћелије

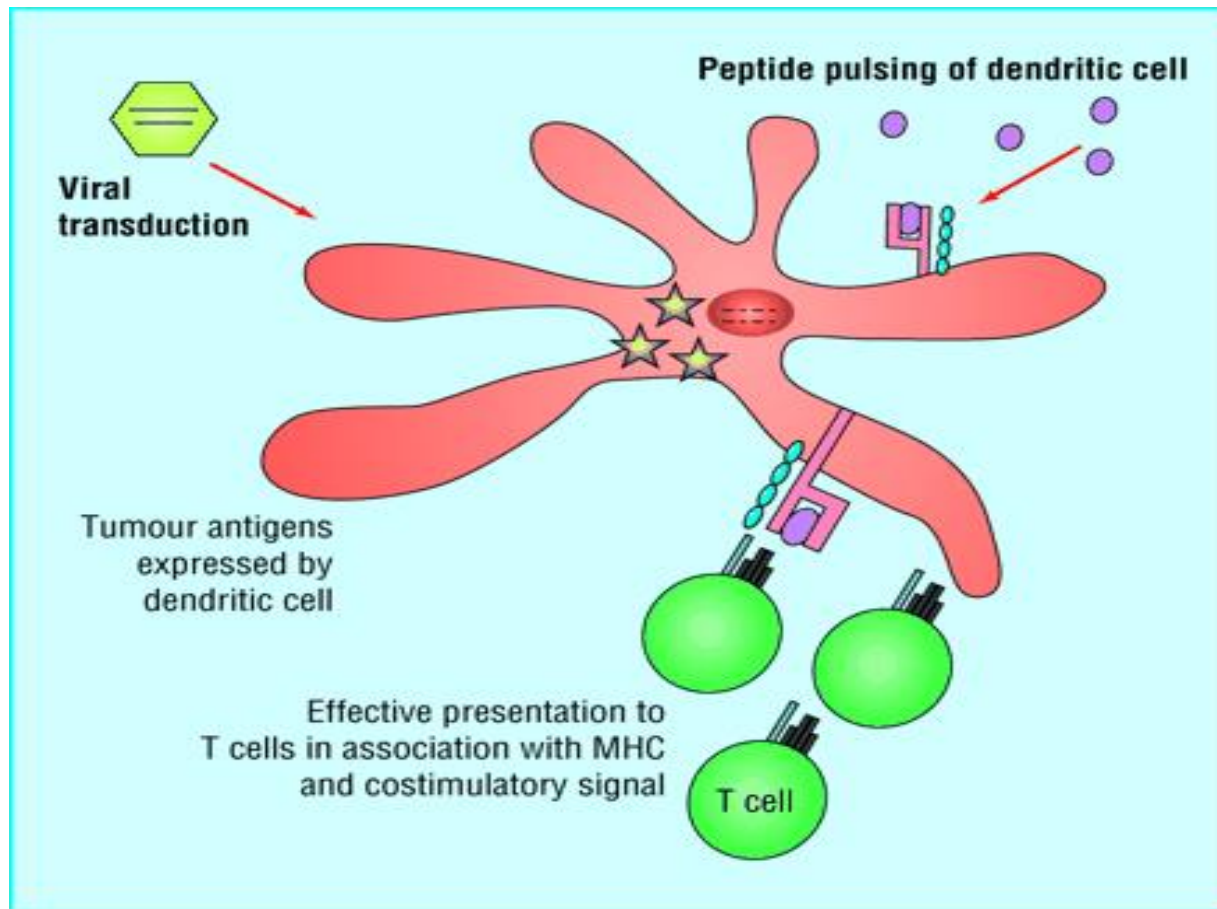
- *in vitro* култивација мононуклеара у присуству високих концентрација цитокина доводи до настанка тзв. ћелија убица активираних лимфокинима (**LAK**, енгл. lymphokine activated killers)
- NK ћелије али и од цитотоксични Т лимфоцити
- већи капацитет убијања од оригиналне популације
- враћају се оболелој особи уз даље *in vivo* давање IL-2
- имунотерапија дала импресивне резултате у регресији солидних тумора

# TIL ћелије

- TIL терапија
- Росенберг је 1986. изоловао лимфоците који инфилтришу туморе- TIL
- тумор специфични CTL способни да по *in vitro* активацији са IL-2 убију 100–1000 пута ефикасније од LAK ћелија
- TIL: уситњавање тумора до једноћелијске суспензије мононуклеара и туморских ћелија која се затим култивише *in vitro* у току 30 до 45 дана са anti-CD3 mAb и IL-2 док се не достигне неопходан број TIL ћелија које се онда у инфузији са IL-2 враћају болеснику.

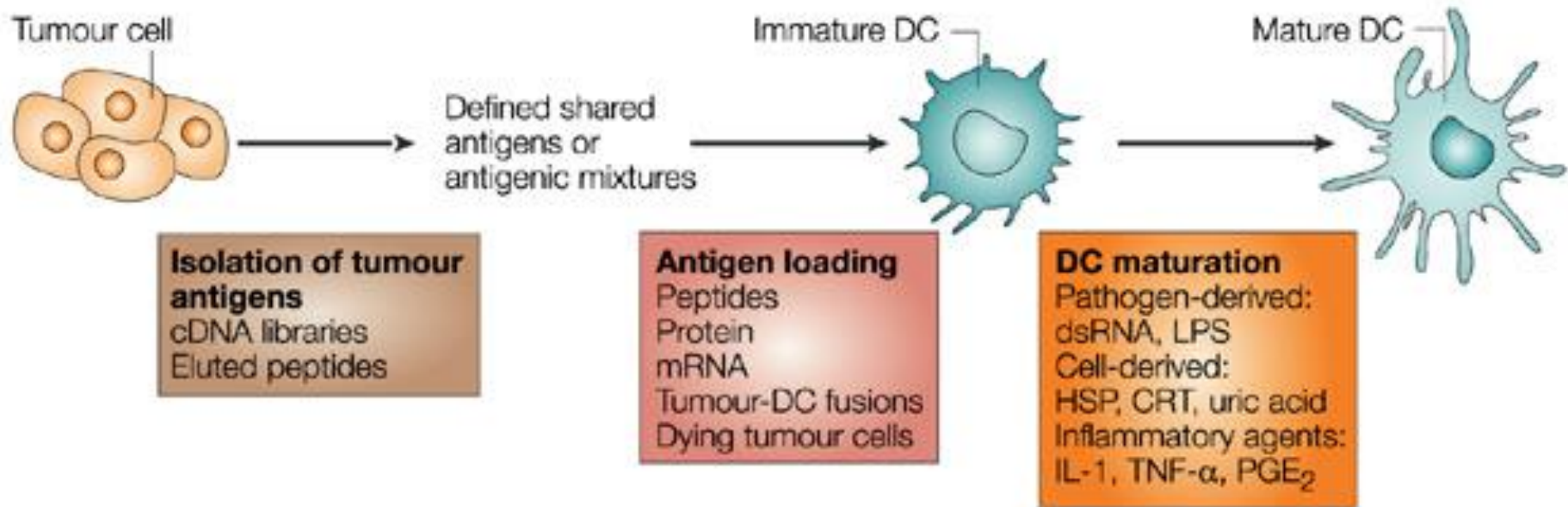
# Специфична активна имунотерапија

- вакцинација
- туморске ћелије и антигени
- повећање имуног одговора против тумора
- најбољи начин да се индукују CTL одговори
- тешко је индуковати јак и довољан имуни одговор који ће искоренити све ћелије растућег тумора
- развој вирусно индукованих тумора може бити спечен вакцинацијом са виралним антигенима или разблаженим живим вирусима



имунизација са пречишћеним дендритским ћелијама које су инкубиране са туморским ћелијама

# *Ex vivo* генерисање дендритских ћелија

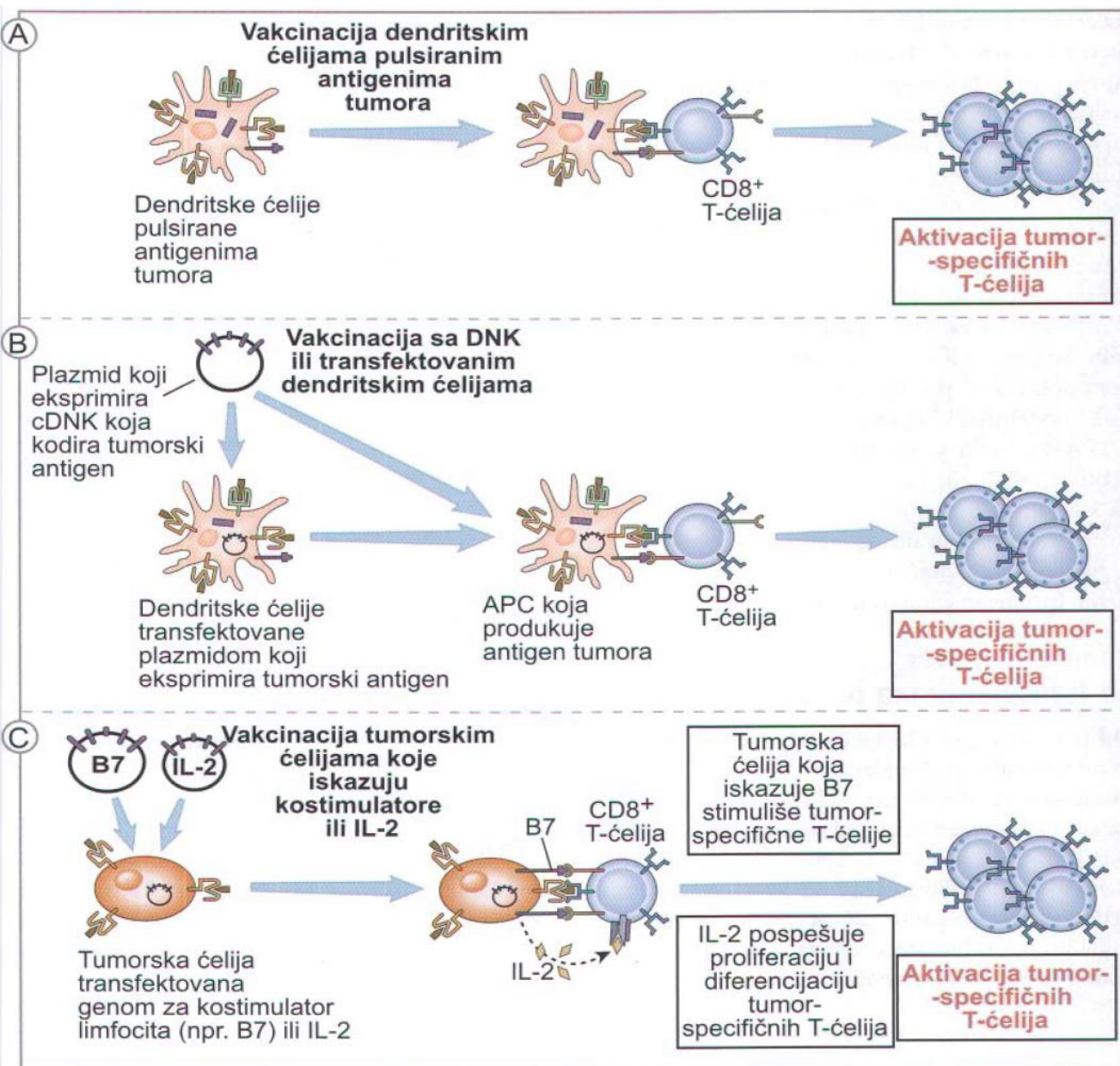


Nature Reviews | Cancer

- изоловани туморски антигени (површински)
- DCs инкубиране са туморским антигенима
- матурација (calreticulin, HSP, interleukin-1; LPS, PGE<sub>2</sub>, TNF)



# Вакцинација пацијената сопственим туморским ћелијама или њиховим антигенима



Вакцине против онкогених вируса: против v. hepatitis-a B, хуманог папилома вируса

Антитела против CTLA4

## A Pasivna imunost transferom tumor-specifičnih T-ćelija ili antitela

T-ćelije izoluju se iz pacijenta i umnožavaju u kulturi

Monoklonska antitela specifična za tumorski antigen

Transfer tumor-specifičnih T-ćelija ili antitela kod pacijenta obolelog od malignog tumora

Tumorska ćelija

Prepoznavanje antitelima ili T-ćelijama i ubijanje tumorske ćelije

## B Blokada kontrolnih tačaka: aktivna imunost pospešena blokadom inhibitornih molekula T-ćelija

Monoklonska antitela specifična za inhibitorne receptore na T-ćelijama (npr. PD-1, CTLA-4)

Transfer antitela kod pacijenta obolelog od malignog tumora

Blokada inhibitornih receptora antitelima

Novoprepoznati antigeni tumora

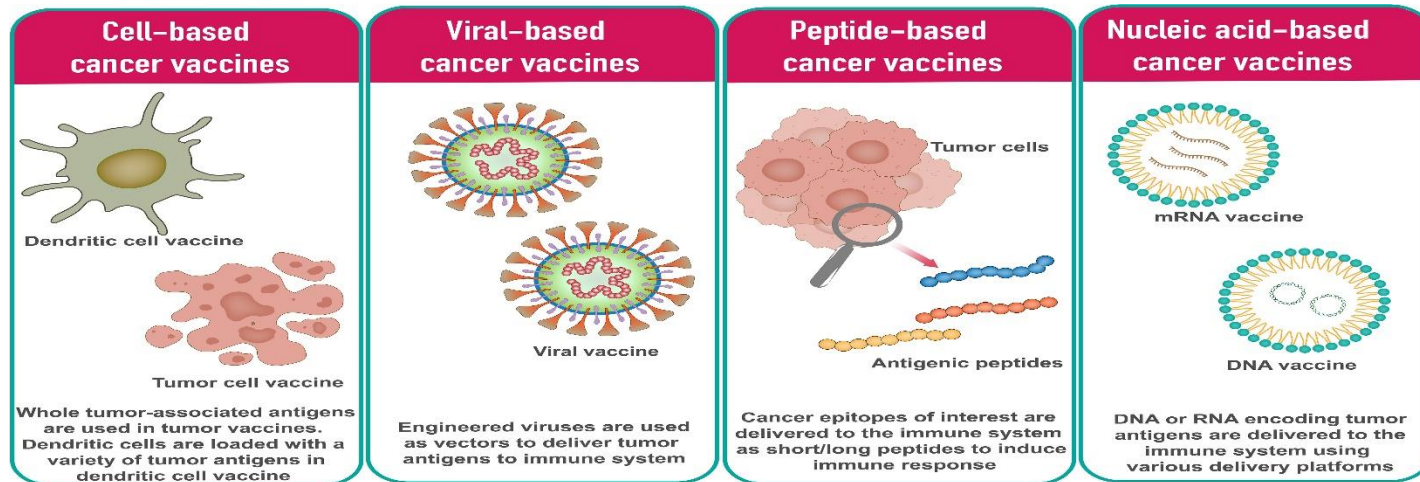
T-ćelija specifična za tumor

Aktivacija tumor-specifičnih T-ćelija i ubijanje tumorskih ćelija



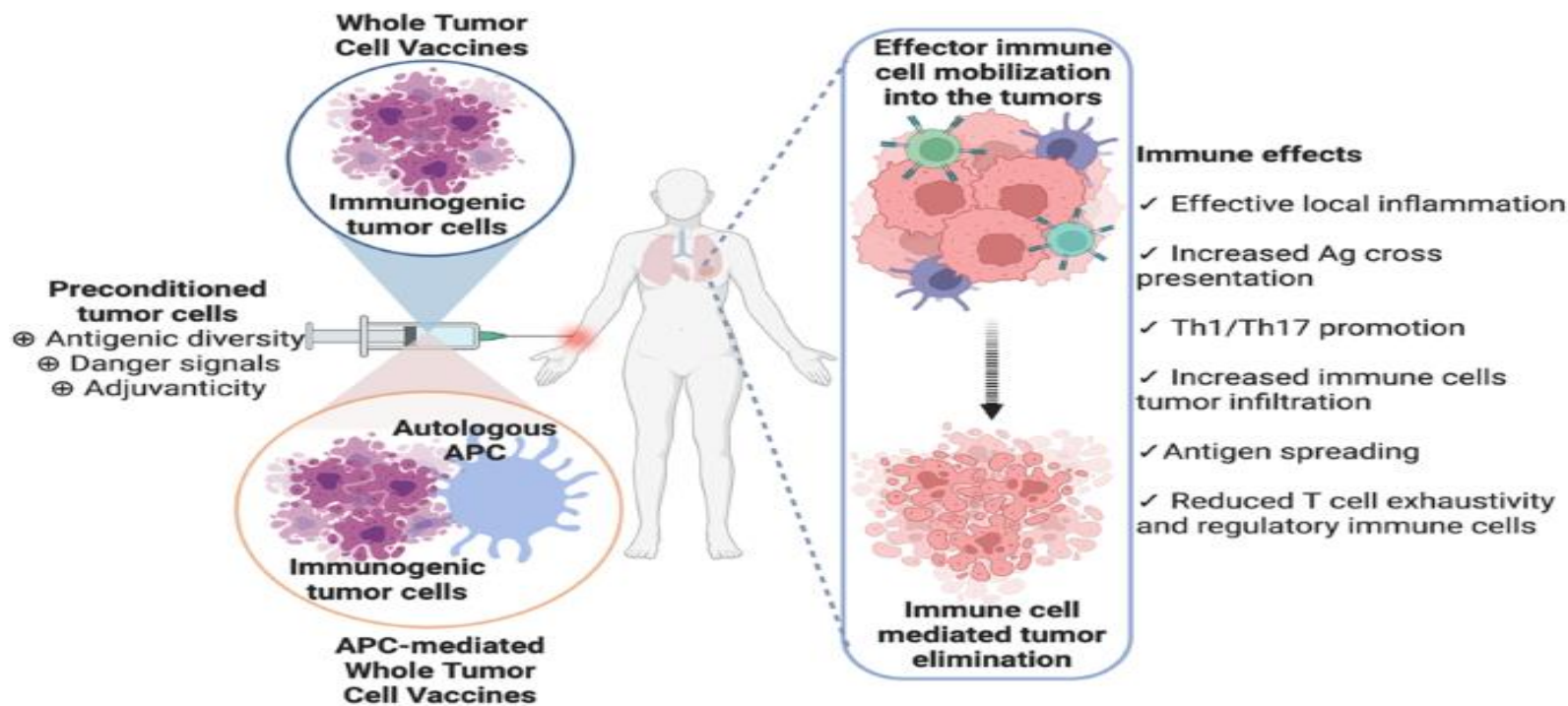
# Четири категорије туморских вакцина

- На ћелијској бази
- На бази пептида
- На бази вируса
- На бази нуклеинских киселина



# Туморске вакцине на ћелијској бази

Туморске вакцине засноване на ћелијама се често припремају од целих ћелија или фрагмената ћелија

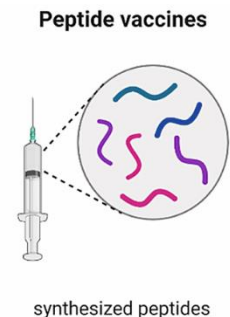


# Туморске вакцине засноване на вирусима

- Вируси су природно имуногени и њихов генетски материјал се може конструисати да садржи секвенце које кодирају туморске антигене.
- Неколико рекомбинантних вируса, као што је аденовирус, могу инфицирати имуне ћелије као вектори. Конструисане вирусне вакцине могу представити туморске антигене у великим количинама и покренути имунски одговор на исте (антитуморски имунски одговор).
- Онколитички вирус се такође може користити као вектор. Осим што обезбеђује туморске антигене, сам вирус такође може да лизира тумор, ослобађа туморске антигене, додатно повећава ефикасност вакцине и производи дугорочну меморију имунског система.

# Туморске вакцине засноване на пептидима

- Подјединичне вакцине засноване на пептидима, укључујући хемијске и биосинтетичке препарате предвиђених или познатих специфичних туморских антигена, изазивају снажан имуни одговор.
- Вакцина на бази пептида у комбинацији са адјувансима може ефикасно да изазове хуморални имуни одговор, погодан за превенцију и лечење вирусних инфективних болести. HBV и HPV вакцине за карцином јетре и грлића материце су првенствено биле подјединице засноване на пептидима.



# Туморске вакцине на бази нуклеинских киселина

- Вакцина нуклеинске киселине индукује јаке целуларне одговоре (цитотоксичним Т лимфоцитима); Пожељна платформа за вакцину против рака.
- Вакцине нуклеинске киселине могу истовремено да испоруче више антигена за покретање хуморалног и целуларног имунитета.
- Вакцине нуклеинске киселине могу кодирати туморске антигене пуне дужине, омогућавајући ћелијама које приказују антиген да унакрсно представи различите епитопе или прикаже неколико антигена истовремено.
- Припрема вакцине нуклеинске киселине је једноставна и брза, што је погодно за развој персонализованих неоантигенских вакцина против тумора.

- Основа свих имунотерапија и вакцина против тумора је свеобухватно разумевање механизма којима тумори избегавају имунски систем.
- Нове технологије омогућиле су дубину разумевања туморске микросредине и извлачење значајних закључака у вези са механизмима резистенције који управљају одговором на терапију у различитим стадијумима болести.



